

На правах рукописи

Суздальцева Наталья Алексеевна

**ХРОНИЧЕСКАЯ ЭПШТЕЙНА-БАРР ВИРУСНАЯ ИНФЕКЦИЯ:
ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПРИ РЕСПИРАТОРНОЙ ПАТОЛОГИИ,
АССОЦИИРОВАННОЙ С НЕПЕРЕНОСИМОСТЬЮ НЕСТЕРОИДНЫХ
ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ**

3.1.22 – Инфекционные болезни

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Уфа – 2022

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук,
профессор

Валишин Дамир Асхатович

Официальные оппоненты:

Бабаченко Ирина Владимировна - доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства», заведующая научно-исследовательским отделом капельных инфекций;

Кокорева Светлана Петровна - доктор медицинских наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующая кафедрой инфекционных болезней.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «__» _____ 202__ года в ____ часов на заседании диссертационного совета Д 21.2.004.03 при Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 450008, г. Уфа, ул. Ленина, д. 3.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, сайт www.bashgmu.ru.

Автореферат разослан «__» _____ 2023 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук

Хасанова Гузэль Миргасимовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Герпесвирусные инфекции в настоящее время признаются актуальной медико-социальной проблемой вследствие их широкой распространенности в человеческой популяции (Исаков В.А. и др., 2013; Мелехина Е.В. и др., 2016; Соломай Т.В., 2020). Генетическая особенность герпесвирусов позволяет им находиться в организме человека в латентном, реактивированном и персистирующем состояниях (Касымова Е.Б., 2016; Якушина С.А. и др., 2018; Понежева Ж.Б. и др., 2019;). Большой научный и практический интерес вызывает вирус Эпштейна-Барр (ВЭБ), которым инфицировано более 90% населения (Касымова Е.Б. и др., 2017; Шарипова Е.В. и др., 2013; Valfour H.H. et al., 2014). Пролиферация вируса может происходить во всех органах, приводя к развитию структурных изменений в них (Харламова Ф.С., 2006; Данилова Н.В. и др., 2021; Ryan J.L., 2012).

В амбулаторной врачебной практике часто встречаются респираторные заболевания вирусной этиологии. ВЭБ может играть роль триггера в развитии хронического поражения дыхательных путей посредством инфицирования клеток слизисто-ассоциированной лимфоидной ткани (Медведев А.Ю., 2011; Tugizov S., 2007; Cohen J.I. et al., 2011). Представляется значимым исследование экспрессии вирусных белков в тканях и специфического иммунного ответа к ним при разных клинических фенотипах респираторных заболеваний. Несмотря на достигнутые успехи в понимании этиологии и патогенеза атопии, неаллергические формы болезней респираторного тракта до сих пор ставят перед врачами разного профиля много сложных задач, так как они часто ассоциированы с более тяжелым течением обструктивного процесса в дыхательных путях. Остаются неизученными механизмы лекарственной непереносимости при острой и хронической ВЭБ-инфекции.

В настоящее время бронхиальная астма и полипозный риносинусит, индуцированные нестероидными противовоспалительными препаратами (НПВП) рассматриваются как единая по этиологии и патогенезу хроническая респираторная неаллергическая эозинофильная воспалительная патология, в развитии которой имеет значение персистирующая инфекция (Суздальцева Т.В., 2000; Kowalski M.L., 2002). Роль вирусов, в том числе ВЭБ, при данных заболеваниях сегодня не имеет прямых доказательств и требует проведения дополнительных исследований. Остается неясным, почему, несмотря на наличие явных признаков интерлейкин-5-зависимого эозинофильного воспаления, в их патогенезе превалирует иммунный ответ, характерный для инфекционных процессов.

Исследование этиологии респираторных заболеваний, связанных с НПВП-гиперчувствительностью, является актуальной медицинской и социальной проблемой, так как позволяет разработать пути контроля хронического прогрессирующего воспаления у пациентов, нередко сопровождающегося развитием угрожающих жизни осложнений и потерей работоспособности.

Предпосылками для изучения роли ВЭБ при респираторной патологии, ассоциированной с НПВП-непереносимостью, послужили следующие факты: 1.Репликация ВЭБ происходит в клетках слизистой дыхательных путей и иммунной системы; 2.ВЭБ обладает способностью ингибировать циклооксигеназу и индуцировать продукцию лейкотриенов; 3.НПВП-индуцированное респираторное заболевание (НИРЗ) является хроническим эозинофильным воспалительным заболеванием предположительно вирусной этиологии с дефектом в системе метаболизма арахидоновой кислоты.

Степень разработанности темы исследования. В последнее десятилетие значению ВЭБ в развитии патологии внутренних органов уделяли внимание исследователи разных стран (Горейко Т.В., 2011; Красницкая А.С., 2012; Гурцевич В.Э., 2016; Триско А.А., 2017; Шарипова Е.В., 2013; Pascale M. Et al., 2012; Kerr J.R., 2019; Chen J., 2019; Hougen G. 2021). Их работы способствовали пониманию патогенеза многих онкологических и воспалительных заболеваний; отражали характер иммунных нарушений на фоне хронической инфекции, вызванной ВЭБ (Дудукина Е.А., 2013; Бикбаева Т.В., 2016; Гурцевич В.Э., 2016; Borza С.М. et al., 2002; Pascale M. Et al., 2012). Вместе с тем, участие ВЭБ в индукции и прогрессировании эозинофильного воспаления дыхательных путей и лекарственной непереносимости, а также особенность реагирования иммунной системы на белки ВЭБ при различных фенотипах патологии не изучались. Несомненный интерес представляют результаты ряда экспериментальных научных работ, посвященных влиянию ВЭБ на метаболический каскад арахидоновой кислоты и эозинофилогенез (Schulam P.G., 1990; Gosselin J., 1997; Savard M., 2000). В существующих гипотезах развития респираторных заболеваний, индуцированных НПВП препаратами, указывается на возможность вирусной этиологии процесса (Szceklik A., 1998). До сих пор непонятна роль CD4+25+-лимфоцитов и В1-лимфоцитов в патогенезе хронических неаллергических заболеваний органов дыхания. Учитывая участие этих клеток в регуляции иммунного ответа (Воробьев А.А., 2006; Дранник Г.Н., 2006), представляется значимым определение их места в патогенезе хронической ВЭБ-инфекции в сочетании с НПВП-индуцированными респираторными заболеваниями (НИРЗ). Проблема ВЭБ-ассоциированной патологии дыхательных путей требует дальнейшего изучения, исходя из современных возможностей научного поиска.

Цель исследования: установить особенности иммунопатогенеза хронической инфекции, вызванной вирусом Эпштейна-Барр, у взрослых пациентов с респираторной патологией, индуцированной нестероидными противовоспалительными препаратами.

Задачи исследования:

1. Оценить частоту выявления клинических маркеров хронической инфекции, вызванной вирусом Эпштейна-Барр, у взрослых пациентов с респираторной патологией, ассоциированной с НПВП-гиперчувствительностью.
2. Определить профиль антител класса IgM и IgG к белкам (VCAgp125, p19, p22, EBNA-1, EA-D) вируса Эпштейна-Барр методом иммуноблота и состояние клеточного звена иммунной системы у взрослых пациентов с патологией, индуцированной НПВП.
3. Изучить гуморальный ответ иммунной системы на вирус Эпштейна-Барр и фенотип лимфоцитов при НПВП-гиперчувствительности у взрослых пациентов с хроническим риносинуситом и бронхиальной астмой.
4. Провести анализ серологических вирусспецифических и клеточных параметров состояния иммунной системы у взрослых пациентов с НПВП-индуцированной и атопической респираторной патологией, инфицированных ВЭБ.
5. Исследовать экспрессию белков вируса Эпштейна-Барр (LMP, PE2, EBV3) и лимфоцитарных маркеров (CD20 и CD13) в клетках полипов при НПВП-индуцированном полипозе носа с помощью метода иммуногистохимии.

Научная новизна работы

Впервые установлены особенности реагирования иммунной системы на разные белки вируса Эпштейна-Барр с помощью метода иммуноблота при НПВП-индуцированной и атопической патологии с учетом фенотипа заболеваний (Свидетельство №215 «Бронхиальная астма и полипозный риносинусит, ассоциированные с непереносимостью нестероидных противовоспалительных

препаратов, являются респираторной формой хронической инфекции, вызванной вирусом Эпштейна-Барр» от 25 декабря 2019 г., Российская Федерация).

Получены данные по участию неизученных ранее отдельных фенотипических разновидностей лимфоцитов, в том числе CD4+25+-клеток, в патогенезе хронической инфекции, вызванной вирусом Эпштейна-Барр (ИВЭБ), ассоциированной с НПВП-непереносимостью.

Доказана экспрессия белков ВЭБ, в частности LMP, PE2, EBV3, и белков CD20 и CD13 в клетках полипов носа с помощью метода иммуногистохимии у пациентов с НПВП-гиперчувствительностью.

Теоретическая и практическая значимость работы

Установленная в ходе исследования взаимосвязь между хронической ИВЭБ и респираторной патологией, ассоциированной с НПВП-гиперчувствительностью, дает возможность разработать новые подходы к диагностике и этиотропной терапии заболевания.

Предложено использование с целью диагностики НПВП-ассоциированной респираторной патологии дополнительных иммунологических параметров, в частности, определение содержания CD4+25+-лимфоцитов крови методом проточной цитофлуориметрии и антител класса IgG к белкам ВЭБ методом иммуноблота.

Обоснована возможность использования метода иммуногистохимии для определения экспрессии белков ВЭБ в клетках полипов носа с целью диагностики ВЭБ-ассоциированного назального полипоза.

Положения, выносимые на защиту:

1. Хроническая ВЭБ-инфекция у взрослых пациентов с респираторной патологией, индуцированной НПВП, отличается повышенной продукцией антикапсидных IgG-антител к белкам VCAp125, p19 и снижением количества CD4+25+-лимфоцитов в крови, что отражает особый характер реагирования иммунной системы на вирус.

2. Профиль гуморального ВЭБ-специфического иммунного ответа и изменений фенотипа лимфоцитов крови у взрослых пациентов с разными клиническими вариантами респираторной НПВП-индуцированной патологии, а именно: хроническим риносинуситом и бронхиальной астмой, не имеет достоверных различий, но отличается от такового при заболеваниях дыхательных путей с ведущим атопическим механизмом развития.

3. Полипоз носа, сочетающийся с НПВП-гиперчувствительностью, ассоциирован с ВЭБ-инфекцией, о чем свидетельствует выявление экспрессии белков вируса, в частности LMP 1, EBV3, PE2, в клетках полипов.

Методология и методы исследования

Представленная на защиту научно – исследовательская работа выполнена с соблюдением этических норм и принципов доказательной медицины. На участие в исследовании получено информированное согласие всех пациентов. В соответствии с поставленной целью и задачами был разработан план выполнения всех этапов диссертационной работы, выбран объем исследования, разработан дизайн исследования, подобран комплекс современных методов диагностики, проведена статистическая обработка полученных результатов с использованием программных средств, в том числе пакета «Statistica 6.0» (StatSoft Inc.). Для оформления иллюстраций, наглядно отображающих результаты исследования, применены программные средства пакета Microsoft Office.

Степень достоверности результатов исследования

Необходимое число наблюдений в выборках, правильное формирование основных и контрольных групп, использование современных лабораторных методов и способов математической обработки результатов позволили получить достоверные научные данные, которые легли в основу изложенных положений, выводов и практических рекомендаций.

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты диссертационной работы внедрены в практическую деятельность кафедры инфекционных болезней Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации и на базе специализированного «Лечебно-диагностического центра Иммунологии и Аллергологии» города Самара. Результаты настоящего исследования используются при подготовке студентов и ординаторов, а также на циклах повышения квалификации врачей на кафедре инфекционных болезней с курсом ИДПО Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

По результатам диссертационного исследования получено Свидетельство № 215 на объект интеллектуальной собственности «Бронхиальная астма и полипозный риносинусит, ассоциированные с непереносимостью нестероидных противовоспалительных препаратов, являются респираторной формой хронической инфекции, вызванной вирусом Эпштейна-Барр» от 25 декабря 2019 г., в котором впервые обозначены особенности ответа иммунной системы на ВЭБ при НПВП-индуцированной патологии.

Апробация результатов исследования

Основные результаты исследований по работе доложены на научных конференциях и конгрессах: «Современные проблемы аллергологии, иммунологии и иммунофармакологии» (Москва, 2007, 2011); «Современные проблемы аллергологии, иммунологии и иммунофармакологии» (Казань, 2009); ежегодном Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 2012, 2019); Международном форуме «Клиническая иммунология и аллергология – междисциплинарные проблемы» (Казань, 2014); на заседании Самарского отделения Всероссийского научного общества инфекционистов (Самара 2018, 2019); на XII Ежегодном Всероссийском интернет-конгрессе по инфекционным болезням с международным участием (Москва, 2020), XIII Ежегодном Всероссийском конгрессе по инфекционным болезням имени академика В.И. Покровского (Москва, 2021).

Личный вклад автора

Автором проведен аналитический обзор современной отечественной и зарубежной литературы, сформулирована цель и задачи исследования, составлен дизайн исследования, выполнено клиническое обследование пациентов, проведен анализ результатов клинико-лабораторных данных 230 пациентов с хронической ИВЭБ, совместно со специалистом клинической лабораторной диагностики выполнена микроскопия иммуногистохимических препаратов и оценка результатов иммуноблота, проведен статистический анализ полученных результатов, сделаны научные выводы.

Соответствие работы паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности: 3.1.22 Инфекционные болезни, как области клинической медицины, изучающей этиологию,

клинико-иммунологические особенности и подходы к диагностике инфекционных болезней у человека, в частности, инфекции, вызванной вирусом Эпштейна-Барр. Результаты проведенного исследования соответствуют областям исследований: пунктам 1,2,3 паспорта специальности «Инфекционные болезни».

Сведения о публикациях по теме диссертации

По материалам диссертации опубликовано 14 научных работ, в том числе 3 в журналах, рекомендуемых Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 131 страницах машинописного текста и состоит из введения, 6 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений, и списка литературы. Работа содержит 12 таблиц и 22 рисунка. Список литературы включает 244 источника, из которых 95 отечественных и 149 зарубежных авторов.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Исследование выполнялось на базе специализированного центра «Лечебно-диагностический центр Иммунологии и Аллергологии» (г. Самара) с 2012 по 2020 гг. В исследование включались взрослые пациенты в возрасте от 18 до 70 лет, которые дали письменное информированное согласие на участие в работе, не лечились с помощью методов химиотерапии и лучевой терапии в течении 6 месяцев до исследования и с использованием системных иммуномодуляторов, противовирусных препаратов за 3 месяца до исследования. Критерием включения пациентов в группу 1 было наличие признаков непереносимости НПВП. Критерии исключения из исследования: отказ от участия в исследовании; наличие лабораторных признаков ВИЧ-инфекции, вирусных гепатитов, острых и обострения хронических инфекционных заболеваний, первичных иммунодефицитов, психических и онкологических заболеваний. Критерием исключения из группы 2 было наличие признаков непереносимости НПВП.

Объектом исследования были 230 взрослых пациентов мужского и женского пола от 18 до 70 лет, которые обратились для обследования и получения консультативной помощи (медиана возраста обследуемых – 52 года, женщины составляли 57%, мужчины – 43%). В общей выборке выделены две группы сравнения: основная клиническая группа (группа 1) включала 100 пациентов, имеющих признаки гиперчувствительности к НПВП, контрольная группа (группа 2) включала 100 пациентов с сопоставимыми заболеваниями без клинико-лабораторных признаков непереносимости НПВП. Среди обследованных группы 1 женщин было 68 (68%), медиана возраста – 49 лет, мужчин – 32 (32%), медиана возраста – 54 года. Среди пациентов группы 2 женщин было 58% (n=58), медиана возраста – 47 лет, мужчин – 42% (n=42), медиана возраста обследованных – 49 лет. Сравнимые группы были сопоставимы по полу и возрасту участников исследования. Для проведения сравнительного анализа методом случайной выборки были выделены 2 подгруппы больных с НПВП-непереносимостью: в первую вошли 40 пациентов с риносинуситом (медиана возраста – 49,3 лет), во вторую – 40 пациентов с бронхиальной астмой (медиана возраста – 54 года). В первой подгруппе преобладали мужчины (55,5%), во второй – женщины (78,9%). Дополнительно сформированы две подгруппы исследуемых (по 30 человек в каждой) с разными

фенотипами бронхиальной астмы (БА): НПВП-индуцированным и атопическим, а также две подгруппы исследуемых (по 30 человек в каждой) с признаками хронического тонзиллита и без них. В группу 3 вошли 30 пациентов с НПВП-индуцированным полипозом носа, находившихся в отделении оториноларингологии МСЧ № 1 г. Самара с целью проведения полипэктомии.

На первом этапе проводилось клиническое обследование пациентов, оценивались жалобы, анамнез и данные амбулаторных карт. С целью систематизации данных анамнеза, жалоб и результатов клинического обследования было проведено анкетирование пациентов. При сборе анамнеза выяснялось наличие или отсутствие признаков непереносимости лекарственных препаратов. Наряду с данными анамнеза и клинического обследования использовались имеющиеся в медицинских документах результаты проведения провокационных тестов, определения специфических IgE, данные общего анализа крови и определения антител к СagA белку *H. Pylori*, результаты функциональных и ультразвуковых исследований. Особое внимание уделялось анализу проявлений хронической ИВЭБ, в том числе жалобам на боль, жжение, першение в горле, общую слабость, быструю утомляемость, депрессию, раздражительность, нарушение сна, головную боль, повышение температуры тела, боль в мышцах, суставах; объективным данным обследования – увеличению и болезненности лимфатических узлов, гиперемии зева, увеличению миндалин, селезенки и печени. Проанализирована частота встречаемости различных клинических симптомов и нозологических форм сопутствующих заболеваний в сравниваемых группах.

На втором этапе пациентам осуществлялось лабораторное обследование. Антитела класса IgG и IgM к белкам ВЭБ (VCAgp125, p22, p19, EBNA-1, EA-D) определялись у всех пациентов с помощью референтного высокочувствительного и высокоспецифичного метода иммуноблот (ИБ) с использованием тест-системы «Anti-EBVProfile 2 EUROLINE (IgG, IgM)» («EUROIMMUN», Германия). Уникальность иммуноблота заключается в его высокой информативности, достоверности получаемых результатов, а также в возможности точного определения формы и стадии хронической ИВЭБ без дополнительных исследований. Результаты иммуноблота обрабатывались при помощи специальной компьютерной программы «EuroLineScan». Получали графическое изображение антительного профиля к белкам ВЭБ и полуколичественные значения специфических антител. Результат исследования «-» оценивался как отсутствие антител; «+» - низкий уровень (незначительное увеличение), «++» - средний уровень (умеренное повышение), «+++» - высокий уровень (значительное увеличение) определяемых антител. Форму ВЭБ-инфекции определяли по следующим критериям: при первичной инфекции обнаруживаются антитела класса IgM к любому антигену вируса и/или антитела класса IgG к антигенам VCAgp125 и/или gp19 и/или EAD, но отсутствуют антитела к EBNA-1 и p22; при хронической неактивной инфекции продуцируются антитела класса IgG к антигенам EBNA-1 и/или капсидным антигенам, но отсутствуют антитела к EA-антигену и антитела класса IgM к любому белку вируса. Для типичной реактивации инфекции характерно наличие как маркеров активной инфекции (антитела к EA-антигену или антитела IgM к любым белкам ВЭБ), так и маркеров хронической инфекции (IgG к антигену к EBNA-1 и/или капсидным антигенам, включая p22).

Оценка наличия генетического материала ВЭБ в организме проводилась с помощью метода ПЦР и иммуногистохимии. В каждой из групп были выделены 2 подгруппы по 30 пациентов для ПЦР-исследования ДНК вируса в слюне качественным методом с помощью набора реагентов «ЭБАРПОЛ» (ООО НПФ «Литех», Россия). У 30 больных с НПВП-индуцированным полипозом носа проводился

иммуногистохимический анализ белков ВЭБ (LMP1, В13, PE2) и фенотипических маркеров лимфоцитов CD20, CD13 (реагенты фирмы Novocastra, LeacaBiosistemas, Англия) в клетках полипов носа, удаленных в процессе полипэктомии, после их фиксации в растворе формальдегида и специальной подготовки к анализу. Получение парафиновых блоков из фиксированного материала (полипы) осуществлялось в автоматическом режиме на вакуумном инфильтративном процессоре «The Tissue – TekVIP» (Германии). На микротоме «MicrotomeachariotLeicaSM 2000R» (Германия) получали срезы толщиной 4 мкм с применением одноразовых микротомных ножей. Срезы переносились на стекла Polysinslides (Германия) – два среза на одно стекло и высушивались. На видеомикроскопе Micros 300 подсчитывалось количество клеток полипов, имеющих иммуногистохимическую метку.

Оценка фенотипа популяций и субпопуляций лимфоцитов периферической крови проводилась у 50 пациентов каждой группы методом лазерной проточной непрямой цитофлюориметрии (проточный цитометр «FACS-TRAK» фирмы Becton Dickenson, США, наборы реагентов для проточной цитометрии фирм Becton Dickenson, США и DАСО, Финляндия) с использованием двухцветных моноклональных антител к различным поверхностным антигенам и окрашивания антиглобулиновым и антимышиными антителами, мечеными флюорохромами. Клетки исследовались в цельной крови с последующим лизисом эритроцитов. На поверхности лимфоцитов выявлялась коэкспрессия следующих дифференцировочных антигенов (CD): CD3+19+, CD4+8+, CD4+25+, CD3+8+, CD19+5+, CD56+16+3-, CD56+16+3+.

Результаты исследований оценивались с помощью общепринятых методов статистического анализа в соответствии с решаемыми задачами, в том числе стандартных пакетов прикладных программ «Microsoft Excel 2007», «Statistica 6.0», «WINPEPI» (Abramson, 2011). Для определения различий в двух группах применяли непараметрический U критерий Манна-Уитни. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез был задан 0,05. Использован также метод описательной статистики с определением медианы показателей и интерквартильного размаха с представлением результатов в виде медианы показателя и интерквартильного размаха [25; 75] в соответствии с современными требованиями.

Результаты исследования и их обсуждение

Клиническая характеристика сравниваемых групп. Согласно результатам клинического обследования непереносимость НПВП ассоциировалась с обнаружением симптомокомплекса поражения дыхательных путей у всех пациентов. У 100% пациентов группы 1 и у 48 больных (48%) группы 2 выявлялись клинические признаки хронической ИВЭБ, в частности: периферическая лимфаденопатия, увеличение глоточных миндалин (67% и 40%, соответственно); боль в горле, мышцах (42% и 38%, соответственно); периодический субфебрилитет, не связанный с острыми инфекционно-воспалительными заболеваниями (28% и 14%, соответственно); раздражительность, нарушение сна (45% и 21%, соответственно); слабость, утомляемость (48% и 15%, соответственно). Результат оценки основных клинических признаков хронической ИВЭБ в группе 1 и группе 2 представлен на рисунке 1.

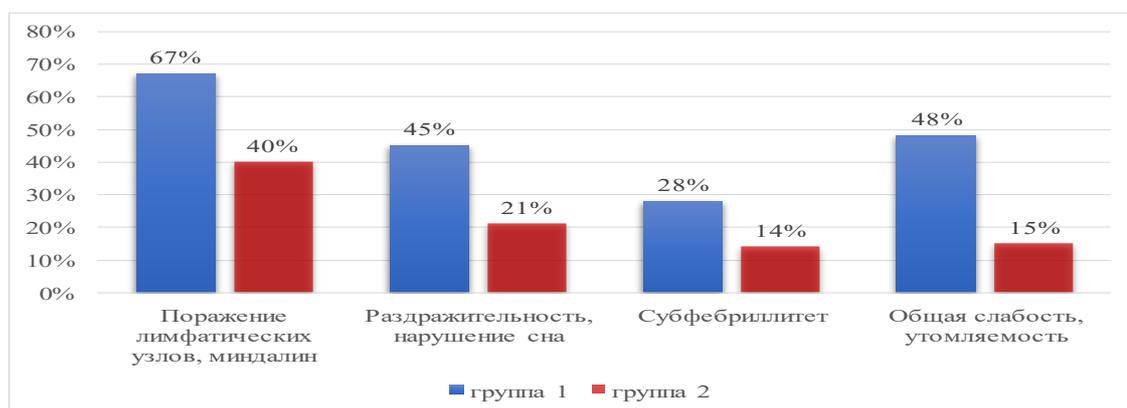


Рисунок 1 – Частота встречаемости основных клинических симптомов ХИВЭБ, по которым сравниваемые группы достоверно различались ($p < 0,05$). Примечание: группа 1 – пациенты с непереносимостью НПВП, группа 2 – больные без клинико-лабораторных признаков непереносимости НПВП

На ежедневный характер перечисленных проявлений в течение 6 месяцев до обращения указывали 41 исследуемых группы 1 и 25 – группы 2. В остальных случаях отмечался периодический характер проявлений хронической ИВЭБ в течение года.

Проведен анализ клинических симптомов поражения разных органов и нозологической структуры заболеваемости в сравниваемых группах, согласно которому в группе 1 с наибольшей частотой встречались риносинусит, бронхиальная астма, полипоз носа, фарингит, гастродуоденит (100%, 74%, 63%, 47%, 67%, соответственно).

Принимая во внимание тот факт, что *H. Pylori* способен усиливать репликацию ВЭБ в клетках, а также, учитывая высокую частоту выявления признаков поражения желудка у пациентов с НПВП-непереносимостью при клиническом обследовании, была проведена оценка инфицированности *H. Pylori* у больных группы 1 (30 чел.) и группы 2 (30 чел.) по данным амбулаторных карт. Установлен факт обнаружения антител класса IgG к токсическому белку CagA белку *H. Pylori* у 90% НПВП-чувствительных и только у 38% НПВП-толерантных больных ($p < 0,05$). По частоте встречаемости антител класса А к CagA белку *H. Pylori* достоверных различий в группах не выявлено. Полученные данные свидетельствовали о вовлеченности хеликобактерной инфекции в патогенез НПВП-индуцированной патологии.

Серологические исследования и оценка клеточных биомаркеров у пациентов с Эпштейна-Барр вирусной инфекцией при респираторной патологии, ассоциированной с НПВП-гиперчувствительностью. Впервые показано, что специфические серологические маркеры хронической инфекции, вызванной ВЭБ, выявляются у всех пациентов с НПВП-индуцированными респираторными заболеваниями. Используемая в работе технология иммуноблот позволила оценить профиль антител класса IgG и IgM к белкам ВЭБ. В 100% случаев в основной группе IgG-иммунный ответ был направлен против капсидных, в 88% - против ядерных, в 24% - против ранних белков ВЭБ. У большинства пациентов обеих групп преимущественно продуцировались антиядерные и антикапсидные вирус-специфические антитела, что ассоциировалось с хронической ИВЭБ. На рисунке 2 представлены результаты исследования IgG-антител к различным белкам ВЭБ.

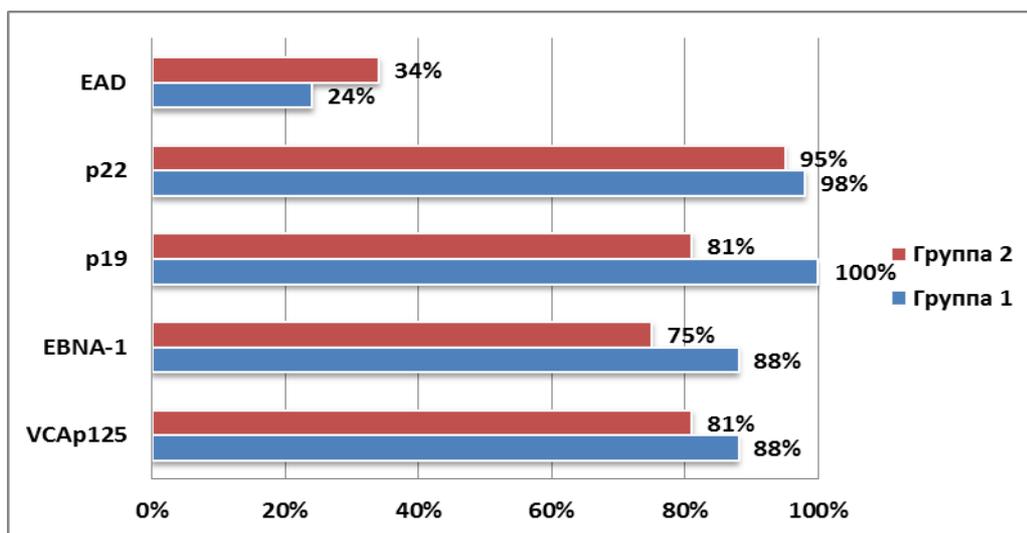


Рисунок 2 – Частота обнаружения IgG-антител к различным белкам ВЭБ в сравниваемых группах. Примечание: группа 1 – пациенты с непереносимостью НПВП, группа 2 – больные без клинико-лабораторных признаков непереносимости НПВП

Антитела класса IgG к VCAp125 обнаружены у 88% НПВП – чувствительных и 81% НПВП – толерантных пациентов. Для больных группы 1 был характерен высокий уровень IgG-антител к VCAgp125 (57 чел.) в отличие от группы 2, в которой данный показатель был значительно ниже (39 чел.).

IgG-антитела к вирусному капсидному белку p19 также определялись у большинства больных группы 1 и группы 2 (100 чел. и 81 чел., соответственно). Высокие значения данного показателя достоверно чаще ($p < 0,05$) определялись у исследуемых группы 1 (в группе 1 – 80 чел., в группе 2 – 46). Для больных с НПВП-непереносимостью была нехарактерной серонегативность по антителам к p19, что наблюдается при хронических вирусных инфекциях с частыми эпизодами реактивации вируса.

Частота выявления антител класса IgG к p22, отражающих давность инфекционного процесса, в сравниваемых группах достоверно не различалась ($p > 0,05$). Однако, высокий уровень этих антител чаще регистрировался у НПВП-чувствительных больных (группа 1 – 56%, группа 2 – 37% случаев).

Продукция антител класса IgG к основному ядерному антигену ВЭБ – EBNA-1-выявлена у 88% пациентов группы 1 (88 чел.) и 75% (75 чел.) пациентов группы 2. Причем, чаще отмечался высокий уровень антител в обеих группах, в частности в группе 1- у 62%, в группе 2 – у 46% исследуемых.

Самой редкой находкой при тестировании вирусспецифических антител у обследованных были IgG-антитела к раннему диффузному антигену (EA-D), указывающие на активность инфекции. В группе 1 эти антитела к EA-D обнаруживались у 24%, в группе 2 – у 34% пациентов. В обеих группах выраженность продукции этих антител была не высокой.

IgM – антитела обнаруживались у исследуемых значительно реже, чем антитела класса IgG, в частности, в группе 1 у 23%, в группе 2 – у 28% случаев. На рисунке 3 показана частота выявления вирусспецифических антител класса IgM в сравниваемых группах.

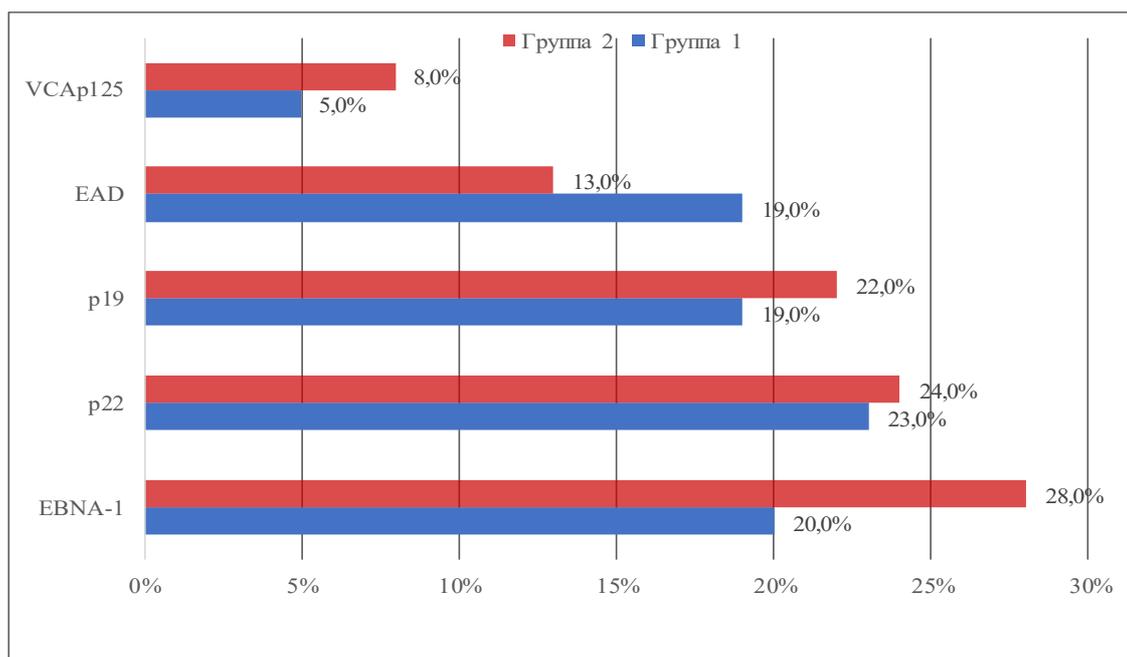


Рисунок 3 – Частота выявления антител класса IgM к белкам ВЭБ у пациентов сравниваемых групп. Примечание: группа 1 – пациенты с непереносимостью НПВП, группа 2 – больные без клинико-лабораторных признаков непереносимости НПВП

Преимущественно, это были антитела к EBNA-1 (группа 1 – 20 чел., группа 2 – 28 чел.), p22 (группа 1 – 23 чел., группа 2 – 24 чел.), p19 (группа 1 -19 чел., группа 2 – 22 чел.) и EA-D белкам (группа 1 – 19 чел., группа 2 – 13 чел.). Обращало на себя внимание редкое обнаружение антител класса IgM к белку VCA125, который является главным индуктором IgG иммунного ответа. Различия в группах сравнения были недостоверными ($p > 0,05$). Примечательно, что ни у одного из обследованных не зафиксировано высокого уровня IgM-антител к VCAgp125, EBNA-1, EA-D. В среднем и низком количестве чаще обнаруживались антитела класса IgM к EBNA-1 (в группе 1 - 20%, в группе 2 – 28%), к EA-D (в группе 1- 19%, в группе 2 – 13%), к VCAgp125 (в группе 1- 5%, в группе 2 – 8%). У большинства больных, серопозитивных по IgM-антителам к ВЭБ, были проявления лимфопролиферативного, респираторного и астеноневротического синдромов, субфебрилитет, характерные для активации вирусного процесса.

У 30 исследуемых группы 1 (НПВП-чувствительные) и группы 2 (НПВП-толерантные), отобранных методом случайной выборки, определялась ДНК ВЭБ в слюне методом ПЦР. ДНК-позитивными были 29% пациентов группы 1 и 23% - группы 2. Причем, в профилях IgG антител у них преобладали антитела к EA-D, VCAp125. У всех ДНК-позитивных пациентов обнаружены антитела класса IgG к капсидным и ядерным антигенам ВЭБ, что указывало на активность хронической инфекции.

С учетом спектра выявленных вирусспецифических антител класса IgG и IgM установлено (рис. 4), что лабораторные признаки первичной инфекции выявляются очень редко, в частности, у 2% исследуемых группы 1 (2 чел.) и 1% (1 чел.) – группы 2 ($p < 0,05$). У большинства пациентов в обеих группах имела место хроническая ВЭБ-инфекция с более частой ($p < 0,05$) типичной реактивацией в группе 2 (группа 1 – 25%, группа 2 – 48%). Среди НПВП-чувствительных больных хроническая неактивная инфекция установлена в 73% и среди НПВП-толерантных – 51% случаев.



Рисунок 4 – Частота встречаемости различных вариантов течения ВЭБ-инфекции у пациентов с сравниваемых групп. Примечание: группа 1 – пациенты с непереносимостью НПВП, группа 2 – больные без клинико-лабораторных признаков непереносимости НПВП

Согласно данным анализа, у большинства исследуемых пациентов выявлялись два профиля IgG – антител: VCAgp125+/p19+/EBNA-1+/p22+/EA-D- (65% случаев) и VCAgp125+/p19+ /EBNA-1+/p22+/EA-D+ (19% случаев). По частоте встречаемости первого из них сравниваемые группы достоверно различались ($p < 0,05$), а именно: в группе 1 она была значительно выше, чем в группе 2 (65% и 43%, соответственно). Примечательно, что эти варианты паттернов отличались между собой только по наличию антител к раннему диффузному антигену вируса (в 19% случаев группы 1 и 25% случаев группы 2).

Из 20 установленных в двух группах профилей антител в группе 1 выявлены только 6, в каждый их них входили антитела к p19. В обеих группах с равной частотой (88%) в профили входили антитела к VCAgp125. Среди НПВП-чувствительных больных в пяти паттернах наблюдались антитела к белку p22.

Вместе с тем, у НПВП-толерантных пациентов в 11% случаев выявлялся необычный профиль антител к VCAgp125-/p19-/EBNA-1-/p22+/EA-D-, указывающий на аномальный гуморальный иммунный ответ. Определение стадии инфекционного процесса в этих случаях представлялась затруднительной и требовала наблюдения пациентов в динамике.

Известно, что в организме человека ВЭБ находится в постоянном взаимодействии с иммунной системой. Противоречивость результатов исследования иммунопатогенеза хронической ВЭБ инфекции и НИРЗ явилась предпосылкой для проведения фенотипического анализа лимфоцитов крови у пациентов с указанной патологией. По результатам проведенного анализа по фенотипу лимфоцитов сравниваемые группы значимо ($p < 0,05$) различались только по относительному и абсолютному содержанию CD4+25+-лимфоцитов, экспрессирующих рецептор к IL2, что указывало на роль этих клеток в патогенезе НПВП-индуцированной патологии на фоне хронической ИВЭБ. Медиана и интерквартильный размах относительного количества CD4+25+-лимфоцитов в группе 1 составили 4,0[2;6]%, в группе 2 – 8[5;10]%, абсолютного количества CD4+25+-лимфоцитов – 79[58;108] и 110[87;190] кл./мкл, соответственно. Сравнимые группы достоверно не различались ($p > 0,05$) по относительному и абсолютному количеству Т-лимфоцитов (CD3+-кл.), Т-хелперов (CD3+4+-кл.), В-лимфоцитов (CD19+-кл.), В-1-лимфоцитов (CD19+5+-кл.),

цитотоксических лимфоцитов (CD3+8+-кл.), NK-клеток (CD3-16+56+-кл.) и NKT-клеток (CD3+16+56+-кл.). Значения указанных выше параметров не выходили за рамки референсных значений.

Относительное содержание CD4+25+-лимфоцитов было снижено у 76% пациентов (38 чел.) группы 1 и только у 20% (10 чел.) – группы 2 ($p<0,05$). Повышение данного показателя значительно чаще ($p<0,05$) встречалось у больных группы 2 (группа 1 – 6% и группа 2 – 26%). По ряду фенотипических разновидностей лимфоцитов установлены дополнительные факты по данным частотного анализа. Так, среднее значение относительного количества CD3+8+-лимфоцитов в сравниваемых группах было нормальным, однако, снижение данного варианта цитотоксических лимфоцитов было частой находкой у исследуемых (у 32 чел. Группы 1 и 33 чел. Группы 2). Увеличение относительного количества CD3+8+-лимфоцитов имело место только у 8% (4 чел.) НПВП-чувствительных и у 2% (1 чел.) НПВП-толерантных пациентов ($p<0,05$). Относительное количество других цитотоксических лимфоцитов – NK-клеток с фенотипом CD16+56+- было снижено у 40% исследуемых группы 2, что не было характерным для больных с НПВП-непереносимостью ($p<0,05$). Анализ сопутствующей патологии у НПВП-толерантных пациентов с NK-дефицитом показал, что при значительном снижении количества CD16+56+-клеток чаще выявлялись вялотекущие хронические инфекционно-воспалительные процессы различной (вирусной, бактериальной, грибковой) этиологии и локализации.

В 34% случаев (17 чел.) в группе 1 и 32%- (16 чел.) в группе 2 наблюдалось повышение относительного количества CD19+5+-клеток. Увеличение количества В-лимфоцитов, экспрессирующих белок CD5, характерно для лимфопролиферативных заболеваний и ряда аутоиммунных расстройств. Общее содержание зрелых В-лимфоцитов с фенотипом CD3-19+ было нормальным у большинства пациентов сравниваемых групп.

Наряду с оценкой фенотипа лимфоцитов проанализированы различные виды лейкоцитов крови. Результаты данного исследования показали, что у большинства исследуемых группы 1 общее содержание лейкоцитов (82%); относительное количество сегментоядерных нейтрофилов (54%), палочкоядерных лейкоцитов (100%), моноцитов (64%) находилось в пределах референсного интервала. Вместе с тем, часть показателей в группах сравнения достоверно различалась. Эозинофилия крови выявлялась у 50% пациентов с НПВП-непереносимостью и у 26% НПВП-толерантных больных ($p<0,05$). Медиана относительного количества эозинофилов крови у обследованных Группы 1 была равна 7%, у НПВП-толерантных пациентов – 3%. Ретроспективная оценка количества эозинофилов в крови по данным амбулаторных карт пациентов показала, что эозинофилия крови имела место уже на ранних этапах развития патологии, являлась стойкой. Выраженность эозинофилии уменьшалась на фоне приема глюкокортикостероидов (в отдельных случаях до 0), в период обострения заболеваний – увеличивалась. Повышение уровня эозинофилов часто предшествовало обострению заболевания, что может иметь прогностическое значение. Относительное содержание лимфоцитов оказалось сниженным у 30% НПВП-чувствительных и 15% НПВП-толерантных больных ($p<0,05$), тогда как повышение данного показателя было характерным для пациентов группы 2 (50% случаев). Примечательно, что увеличение относительного количества палочкоядерных лейкоцитов не обнаружено ни у одного исследуемого группы 1, вместе с тем в группе 2 подобное изменение было у 93% пациентов ($p<0,05$).

Результаты проведенного исследования убедительно доказали, что НИРЗ развиваются на фоне хронической ИВЭБ, характеризующейся гиперпродукцией антител класса IgG к EBNA-1, VCAgp125 и p19 белкам вируса, снижением содержания CD4+25-лимфоцитов и эозинофилией крови.

Характеристика серологических и клеточных показателей при различных клинических фенотипах НПВП-индуцированной патологии и инфекции, вызванной вирусом Эпштейна-Барр. В настоящее время известно о патогенетической взаимосвязи бронхиальной астмы и риносинусита, ассоциированных с НПВП-гиперчувствительностью. Проведенное сравнительное исследование с учетом клинических вариантов изучаемого заболевания впервые показало, что проявления гуморального специфического иммунного ответа на различные антигены ВЭБ при разных клинических фенотипах заболевания аналогичны. Превалирующий паттерн антител IgG-антител (AVCA gp125+/VCA p19+/EBNA-1+/p22+/EA-D-) отмечался у 25 пациентов с хроническим риносинуситом и 21 – с астмой.

По данным частотного анализа, типичным для НПВП-индуцированного риносинусита и астмы являлась гиперпродукция антител к белкам gpVCA125 и p19 ВЭБ. Антитела к VCAgp125 в высоком титре обнаружены у всех пациентов с риносинуситом и 62,5% - с астмой. У каждого четвертого исследуемого с астмой этот показатель был низким, что было нехарактерным для больных с риносинуситом ($p < 0,05$). Высокий уровень антител к p19 отмечался в 75% случаев в обеих сравниваемых подгруппах.

У 100% больных подгруппы 1 и у 87,5% подгруппы 2 уровень выявленных антител к капсидному белку p22 был средним или высоким. В 12,5% случаев бронхиальной астмы содержание антител к p22 было низким, причем, в этих случаях уровень антител к VCAgp125 был высоким и соотношение AVCAgp125 к Ap22 было значительно больше единицы, что указывало на реактивацию ВЭБ.

У большинства исследуемых с НПВП-индуцированной астмой (26 чел.) наблюдался вирусспецифический ответ с продукцией антител к EBNA-1 в высоком и среднем количестве. Однако, при риносинусите частота встречаемости такого ответа была значительно ниже (13 чел.). В 35% случаев в подгруппе 1 и 22,5% - в подгруппе 2 антиядерные антитела не выявлялись. Антитела к раннему антигену ВЭБ обнаружены у 37,5% больных с риносинуситом и 25% - с астмой, преимущественно в низком и среднем количестве. Высокое содержание указанного вида антител в подгруппе 1 не зарегистрировано ни в одном случае.

Антитела класса IgM к белкам ВЭБ отмечены в подгруппе 1 в 25%, в подгруппе 2 – у 32,5% случаев, в том числе к EBNA-1 (20% и 22,5%, соответственно), к VCAgp125 (25% и 32,5%, соответственно) и к EA-D (20% и 12,5%, соответственно). Различия в подгруппах сравнения были недостоверными ($p > 0,05$). Ни у одного из исследуемых не зафиксировано высокого уровня IgM-антител к VCAgp125, EBNA-1, EA-D. У большинства больных, серопозитивных по IgM-антителам к ВЭБ, были клинические проявления, характерные для активной вирусной инфекции.

Результаты оценки формы ИВЭБ у пациентов с риносинуситом (подгруппа 1) и бронхиальной астмой (подгруппа 2) отражены на рисунке 5.

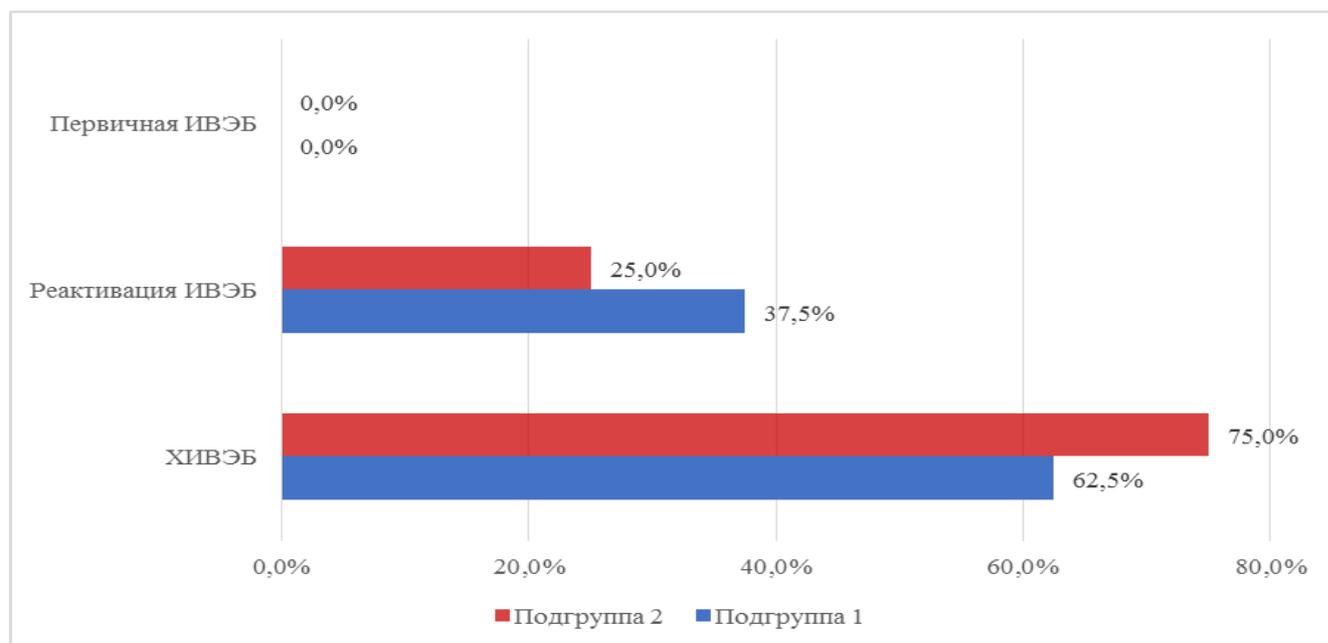


Рисунок 5 – Частота встречаемости различных вариантов течения ВЭБ-инфекции у пациентов сравниваемых подгрупп. Примечание: группа 1 – пациенты с непереносимостью НПВП, группа 2 – больные без признаков непереносимости НПВП

В соответствии с выявленными профилями антител хроническая неактивная ИВЭБ имела место у 62,5% больных с риносинуситом и 75% - с астмой, реактивация инфекции – у 37,5% и 25% пациентов, соответственно. Первичная ВЭБ-инфекция у пациентов обеих групп не обнаружена. По данным ПЦР-диагностики, ДНК ВЭБ в слюне выявлялась только у больных с изолированным НПВП-индуцированным риносинуситом. Ни в одном из случаев бронхиальной астмой не было зафиксировано положительных результатов ПЦР-теста.

Для понимания иммунопатогенеза ИВЭБ в сочетании с НПВП-непереносимостью имело значение исследование клеточного звена иммунной системы у пациентов с риносинуситом и бронхиальной астмой. Проведенный анализ показал, что по фенотипу лимфоцитов сравниваемые группы достоверно не различались между собой. У большинства исследуемых выявлялось характерное для общей группы НПВП-индуцированной патологии достоверное ($p < 0,05$) снижение относительного содержания CD4+25+-лимфоцитов. Низкие значения данного показателя наиболее часто отмечались у больных с тяжелой бронхиальной астмой (в 80% случаев). Относительная эозинофилия крови установлена у 72,5% исследуемых с риносинуситом (медиана 8[6;10]%) и 62,5% - с БА (медиана 9[8;12]%). Лимфопения в два раза чаще регистрировалась при НПВП-ассоциированном риносинусите, чем при БА (30 чел. и 15 чел., соответственно).

Полученные данные подтверждают концепцию, согласно которой ринит и астма, индуцированные НПВП, являются схожей по патогенезу патологией, протекающей на фоне хронической ИВЭБ, что предполагает разработку единой стратегии профилактики и лечения названного патологического процесса. Рассматривается возможность выделения группы риска по развитию НПВП-индуцированной астмы: хронический эозинофильный неаллергический риносинусит в сочетании с повышенной чувствительностью к НПВП на фоне хронической ВЭБ инфекции. Дополнительные исследования в этом направлении позволили бы прояснить динамику вирус-ассоциированного иммунопатологического процесса при НПВП-индуцированном

воспалении дыхательных путей. Проведение противовирусного лечения на этапе активной вирусной инфекции верхних дыхательных путей, возможно, могло бы предотвратить формирование бронхиальной астмы и прогрессирование полипозного риносинусита.

Для того, чтобы установить, имеются ли особенности течения ВЭБ-инфекции при аллергических заболеваниях, был проведен анализ отдельных иммунологических показателей у 30 пациентов с неаллергической НПВП-индуцированной астмой и у 30- с атопической астмой. Результаты частотного анализа показали, что у больных с НПВП-индуцированной астмой, в отличие от атопического варианта, чаще ($p < 0,05$) встречалось значительное повышение уровня антител класса G к антигену VCAp19 ВЭБ (53,6% и 26,8% случаев, соответственно) и положительные результаты определения антител класса G к антигену EA-D (26,8% и 13,4% случаев, соответственно). В соответствии с полученными данными, паттерны антител в сравниваемых подгруппах имели существенные различия (Таблица 1).

Таблица 1 – Частота выявления паттернов IgG-антител к антигенам вируса Эпштейн Барр у пациентов с НПВП-индуцированной и атопической бронхиальной астмой

Паттерн выявленных IgG- антител	Частота выявления паттернов IgG-антител к антигенам ВЭБ у пациентов сравниваемых подгрупп (в абс.чис. и%)				p
	Подгруппа 1, n=30		Подгруппа 2, n=30		
	Абс.чис.	%	Абс.чис.	%	
Ap19+/p22+	1	3,3	0	0	>0,05
AVCAgp125+/EBNA-+/p22+	0	0	4	13,4	<0,05
AVCAgp125+/p22+	0	0	4	13,4	<0,05
AVCAgp125+/p19+	1	3,3	0	0	>0,05
AVCAgp125+/p19+/p22+	0	0	4	13,4	<0,05
AVCAgp125+/p19+/EBNA-1+/p22+	20	66,7	10	33,1	<0,05
AVCAgp125+/p19+/EBNA-1+/p22+/EA-D+	8	26,7	8	26,7	>0,05

Примечание: подгруппа 1 – НПВП-индуцированная астма, подгруппа 2 – атопическая астма, p - критерий достоверности различий показателей в сравниваемых группах

Согласно полученным результатам, паттерны антител AVCAgp125+/EBNA+1+/p22+/p19-/EA-D-; AVCAgp125+/p19-/EBNA-1-/p22+/EA-D-; AVCAgp125+/p19+/EBNA-1-/p22+/EA-D-, обнаруженные у 40,2% обследованных в подгруппе 2, были типичными для атопического варианта бронхиальной астмы и не встречались при аспириин-индуцированной форме болезни ($p < 0,05$). При этом, самый распространенный паттерн IgG-антител AVCAgp125+/p19+/EBNA-1+/p22+/EA-D- в 2 раза чаще регистрировался при БА, ассоциированной с НПВП-непереносимостью (подгруппа 1 – 20 чел., подгруппа 2 – 10 чел.). В 26,8% случаев атопической БА выявлялись профили антител с отрицательными показателями AEBA-1 на фоне положительных показателей AVCAgp125, в частности AVCAgp125+/p19-/EBNA-1-/p22+/EA-D- (13,4%) и AVCAgp125+/VCAp19+/EBNA-1-/p22+/EA-D- (13,4%), что указывало на иной характер реагирования иммунной системы на ВЭБ на фоне классического Th2-иммунного ответа.

По данным частотного анализа у пациентов с НПВП-индуцированной астмой, в отличие от атопической, значительно чаще ($p < 0,05$) определялся высокий уровень антител класса G к антигену VCAp19 ВЭБ (53,6% и 26,8%, соответственно) и положительные результаты определения антител класса G к антигену EA-D (26,8% и 13,4%, соответственно). В сравниваемых подгруппах преобладали случаи хронической ВЭБ-инфекции. Хроническая неактивная инфекция выявлялась в подгруппе 1 у 66,7% исследуемых, в подгруппе 2 – у 70%; признаки активации инфекции – у 33,3% и 30% исследуемых, соответственно. По частоте встречаемости различных вариантов течения ИВЭБ подгруппы достоверно не различались.

Важно отметить, что в отличие от НПВП-индуцированной астмы, при атопическом варианте заболевания относительное и абсолютное содержание CD4+25+ клеток в крови не отличались от референсных значений (7[5;15] %, 110[87;190] кл./мкл, соответственно). По остальным тестируемым показателям фенотипа лимфоцитов и состава клеток крови сравниваемые варианты БА достоверно не различались.

Полученные новые данные позволяют предположить, что существует связь маркеров специфического противовирусного гуморального иммунного ответа с иммунопатогенезом НПВП-индуцированной и атопической патологии. Осмысление выявленных биомаркеров предполагает их использование для диагностики и отбора контингента пациентов для определенного лечения.

Так как хронический тонзиллит является одной из наиболее частых клинических форм проявления ИВЭБ и нередко встречается у больных с НПВП-гиперчувствительностью, впервые была проведена оценка гуморального ответа к ВЭБ при данной патологии. В спектре вирусспецифических антител в обеих группах превалировал характерный для НПВП-индуцированной патологии паттерн IgG-антител: AVCAgp125+/p19+/EBNA-1+/p22+/EA-D- (подгруппа 1 – 73%, подгруппа 2 – 56,7%). Причем, частота встречаемости указанного выше паттерна у пациентов с тонзиллитом была достоверно выше ($p < 0,05$), чем в группе исследуемых без тонзиллита. В подгруппе 1 не выявлялись два профиля антител: AVCAgp125-/p19+/EBNA-1+/p22+/EA-D- и AVCAgp125+/p19+/EBNA-1-/p22+/EA-D-, обнаруженных у 13,4% больных без тонзиллита. Антитела к EBNA-1 входили в профиль 93,3% больных подгруппы 1 и 86,7% - подгруппы 2, антитела к VCAgp125- 93,3% больных подгруппы 1 и 73,3% пациентов подгруппы 2. Примечательно, что во всех выявленных паттернах имели место антитела к p19 и p22, что свидетельствовало о хронической инфекции. Иммунный ответ против EA-D-белка развивался у 20% исследуемых обеих подгрупп. Антивирусные антитела класса IgM зарегистрированы в 20% случаев обеих подгрупп. Признаки хронической ВЭБ – инфекции имели место у 80% больных подгруппы 1 и 73,3% - подгруппы 2; а ее реактивации – у 20% больных подгруппы 1 и 23,3% - подгруппы 2. Представленные данные свидетельствуют о том, что наличие хронического тонзиллита у пациентов с НПВП-индуцированной патологией существенно не влияет на характер вирусспецифического ответа иммунной системы.

Оценка экспрессии белков ВЭБ в полипах у пациентов с НПВП-индуцированным полипозом носа. В работе представлены новые результаты иммуногистохимического исследования полипов, полученных в процессе полипотомии у 30 пациентов с НПВП-гиперчувствительностью (группа 3). Оценка роли ВЭБ в развитии НПВП-индуцированного полипоза носа до настоящего времени не проводилась, что побудило к проведению данного исследования. В 83,3% случаев гистологическая картина полипов носа была характерной для фиброзно-отечной формы полипоза носа с выраженным отеком слизистой оболочки носа, признаками

хронического воспаления и фиброза стромы. Покровный эпителий полипов в большинстве случаев имел форму многоядного мерцательного эпителия респираторного типа, часто с увеличением количества бокаловидных клеток. В 16,6% случаев имела место пролиферативная фаза воспаления, которая характеризовалась значительным увеличением количества лимфоцитов, плазматических и тучных клеток, гранулоцитов. Результативным оказался поиск белков ВЭБ в исследуемых полипах. Главный латентный мембранный протеин – LMP1 – выявлен в 76,6% полипов. Большинство эпителиальных клеток не экспрессировали LMP1-белок (94%). Тогда как в клетках стромы, в том числе, лимфоцитах (67%), макрофагах (59%), гранулоцитах (71%), плазматических (59%) и тучных клетках (39%), отмечалось наличие иммунохимической метки. Принимая во внимание многочисленные доказательства высокой экспрессии данного белка при лимфопролиферативных заболеваниях, представляется важной оценка прогностического значения установленного факта при НИРЗ. Белок ВЭБ PE2- ядерный антиген 2, относящийся к основным индукторам трансформации В-лимфоцитов при ИВЭБ, был обнаружен в 83,3% полипов носа. Этот белок экспрессировался во многих эпителиальных клетках (80%) и клетках воспаления, в частности, гранулоцитах (64%), лимфоцитах (46%), тучных клетках (38%). Внимание исследователей в последние годы привлекает вирусный белок EBV-3, который может функционировать как антагонист IL-12 и ингибировать Th-1 иммунный ответ. Исследование показало наличие экспрессии данного белка в большинстве исследуемых полипов (86,7%). Белок определялся преимущественно в цитоплазме лимфоцитов (65%), макрофагов (46%), эозинофилов (54%). Экспрессия данного протеина в большинстве эпителиальных (94%) и эндотелиальных клеток (92%) не обнаружена.

Наряду с оценкой экспрессии вирусных белков в полипах носа изучалась экспрессия отдельных CD-маркеров лимфоцитов. Известно, что CD20-белок, экспрессируется преимущественно на В-лимфоцитах, которые часто поражаются ВЭБ. Экспрессия данного белка обнаружена в 30 исследуемых полипов, что указывало на участие CD20+-клеток в развитии воспаления при полипозе носа. CD13-антиген, гиперэкспрессия которого характерна для лимфопролиферативных заболеваний, обнаружен на большинстве эпителиальных и 40% стромальных клеток полипов носа. При исследовании полипов носа у пациентов с НИРЗ впервые были получены данные об участии ВЭБ в развитии полипоза носа.

В Заключение обобщены основные результаты научного исследования, подведены его итоги, отражающие достижение цели и решение поставленных задач.

Полученные результаты работы показали особый характер реагирования иммунной системы на ВЭБ при НПВП-индуцированной патологии дыхательных путей. В условиях наследственной предрасположенности к нарушению метаболизма арахидоновой кислоты ВЭБ в качестве триггера может поддерживать патологический метаболический каскад с угнетением продукции P_gE и гиперпродукцией лейкотриенов, что сопровождается формированием гиперчувствительности к НПВП и развитием эозинофильного воспаления в дыхательных путях (Воржева И.И., 2015; Savard M., 2000). Индуцированная ВЭБ деструкция эпителия дыхательных путей может прогрессировать путем включения цитотоксического ответа, который опосредуется клетками иммунной системы.

Необходимо проведение дополнительных вирусологических исследований для уточнения роли вируса Эпштейна-Барр в формировании НИРЗ с целью разработки путей эффективного контроля хронического эозинофильного процесса в дыхательных путях посредством проведения противовирусной терапии. Представляется актуальным

исследование в слизистой дыхательных путей ДНК ВЭБ и других вирусов семейства герпеса с использованием генно-молекулярных методов диагностики.

Проведенное исследование имеет научно-практическое значение. Полученные данные проясняют иммунопатогенез сложных для диагностики и лечения патологических процессов – хронической ИВЭБ и хронической неаллергической эозинофильной патологии дыхательных путей, ассоциированной с НПВП-непереносимостью. Понимание этиологической значимости ВЭБ в формировании лекарственной непереносимости позволяет разработать подходы к профилактике развития системных псевдоаллергических реакций у пациентов с ИВЭБ. Изучение роли ВЭБ в развитии хронических респираторных заболеваний открывает перспективы для проведения дальнейших исследований по разработке этиотропной терапии и предотвращению развития осложнений. Углубление представления о состоянии иммунной системы при хронических вирусных заболеваниях дает возможность повысить качество диагностики и эффективность иммунокорректирующей терапии. Только благодаря междисциплинарному подходу можно разработать и реализовать эффективную лечебно-профилактическую программу при хронической Эпштейн-Барр-вирусной инфекции у пациентов с неаллергическими эозинофильными воспалительными заболеваниями дыхательных путей.

ВЫВОДЫ

1. Клинические признаки хронической Эпштейн-Барр вирусной инфекции выявлены у всех взрослых пациентов с патологией, индуцированной нестероидными противовоспалительными средствами, и у 48% исследуемых без признаков НПВП-непереносимости, а именно: увеличение лимфатических узлов и небных миндалин (67% и 40%, соответственно), общая слабость, утомляемость (48% и 15%), боль в горле, мышцах (42% и 48%) и субфебрильная температура (28% и 14%, соответственно).

У большинства обследованных пациентов основной клинической группы (73%) с помощью метода иммуноблота установлены лабораторные признаки хронической неактивной инфекции, вызванной ВЭБ, у 25% - признаки реактивации инфекции. Серологические проявления первичной инфекции обнаружены в единичных случаях (2 человека).

2. Респираторные заболевания, индуцированные нестероидными противовоспалительными препаратами, ассоциированы с ВЭБ-инфекцией с характерными биомаркерами: паттерн противовирусных IgG-антител- VCA gp125+/VCA p19+/EBNA-1+/p22+/EA-D- (65%) с выраженной продукцией IgG-антител к белкам ВЭБ – VCA gp125, p19; снижение относительного и абсолютного содержания CD4+25+-лимфоцитов; эозинофилия крови.

3. Бронхиальная астма и риносинусит, индуцированные нестероидными противовоспалительными препаратами, являются патогенетически сходными вариантами хронической респираторной патологии, на что указывает аналогичный характер вирусспецифического реагирования иммунной системы на белки вируса Эпштейн-Барр и изменений иммунологических параметров.

4. У пациентов с хронической ВЭБ-инфекцией тип иммунного реагирования при атопическом и НПВП-индуцированном вариантах бронхиальной астмы различный; для аллергического фенотипа типичными являются три паттерна IgG-антител: AVCAgp125+/ p19-/ EBNA-1+/p22+/EA-D-; AVCAgp125+/p19-/EBNA-1-/p22+/ EA-D-; AVCAgp125+/p19+/EBNA-1-/p22+/EA-D- и нормальные показатели содержания CD4+25+-лимфоцитов крови.

5. Развитие полипозного риносинусита, ассоциированного с НПВП-гиперчувствительностью, происходит на фоне ВЭБ-инфекции, о чем свидетельствует выявленная с помощью метода иммуногистохимии экспрессия в клетках полипов носа вирусспецифических белков, в том числе, LMP1 (76,6%), EBV3 (86,7%), PE2 (83,3%), а также белков CD20 и CD13, являющихся маркерами вовлеченных в патогенез вирусной инфекции клеток иммунной системы.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При хронической респираторной патологии, ассоциированной с непереносимостью нестероидных противовоспалительных препаратов, целесообразно включить в диагностический алгоритм определение антител класса IgG методом иммуноблота к белкам ВЭБ с целью диагностики формы ИВЭБ и обоснования применения противовирусных препаратов, а также исследование количества CD4+25+ лимфоцитов крови методом проточной лазерной цитофлуориметрии для уточнения диагноза заболевания.

2. Для оценки участия ВЭБ в развитии полипоза носа и уточнения показаний к проведению противовирусной терапии рекомендуется исследовать в полипах носа, полученных при полипэктомии у пациентов с НПВП-гиперчувствительностью, вирусспецифические белки (LMP1, PE2, EBV3) методом иммуногистохимии.

3. ВЭБ-ассоциированный полипозный риносинусит и бронхиальную астму, сочетающихся с НПВП-непереносимостью, рекомендуется рассматривать как отдельный эндотип респираторной патологии, требующий междисциплинарного подхода к проведению консервативной противовирусной и противовоспалительной терапии.

Перспективы дальнейшего исследования

Актуальными остаются направления оптимизации тактики ведения и изучение эффективности этиотропной и патогенетической терапии у пациентов с хронической респираторной патологией, ассоциированной с НПВП-непереносимостью на фоне ВЭБ-инфекции. Дальнейшее расширение спектра тестируемых в полипах и миндалинах белков ВЭБ и клеточных маркеров будет способствовать получению дополнительной информации о роли вируса в развитии полипоза носа и хронического тонзиллита, ассоциированных с НПВП-непереносимостью.

СПИСОК НАУЧНЫХ ТРУДОВ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования Российской Федерации

1. Суздальцева, Н.А. Иммунопатогенетические варианты Эпштейна-Барр вирусной инфекции / Н.А. Суздальцева, Д.А. Валишин // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. – 2020. – Т. 9, № 4. – С. 88-91.

2. Суздальцева, Н.А. Характеристика антител класса IgG к антигенам вируса Эпштейна-Барр при различных фенотипах хронической респираторной патологии / Н.А. Суздальцева, Т.В. Суздальцева, Д.А. Валишин // Медицинский вестник Башкортостана – 2021. – Т. 16, № 1(91). – С. 37-41.

3. Суздальцева, Н.А. Оценка экспрессии белков вируса Эпштейна-Барр в клетках полипов носа / Н.А. Суздальцева, Т.В. Суздальцева // Медицинский вестник Башкортостана. – 2021. – Т. 16, №1(91). - С. 102–105.

Основные работы, опубликованные в других научных изданиях

4. Суздальцева, Т.В. CD 56 клетки крови человека при аллергических процессах: возрастные гендерные особенности / Т.В. Суздальцева, Н.Н. Вечканова, Н.А. Суздальцева // Российский аллергологический журнал. – 2012. - № 2. – С. 77-78.

5. Суздальцева, Т.В. Клинико-патогенетические фенотипы различных вариантов изменения уровня интерферона-гамма и интерлейкина 4 в сыворотке крови / Т.В. Суздальцева, Н.А. Суздальцева, Е.Б. Сергеева // Современные проблемы аллергологии, иммунологии и иммунофармакологии: материалы XII Междунар. Конгресса РААКИ. – М., 2013. – С. 285-286.

6. Суздальцева, Т.В. Клинические фенотипы увеличения содержания CD4+CD25+-лимфоцитов крови / Т.В. Суздальцева, Н.Н. Вечканова, Н.А. Суздальцева // Клиническая иммунология и аллергология – междисциплинарные проблемы: сб. трудов. – Казань, 2014. – С. 253-254.

7. Суздальцева, Т.В. Аспирин-индуцированная патология дыхательных путей – респираторная форма инфекции, вызванной вирусом Эпштейна-Барр / Т.В. Суздальцева, Н.Н. Вечканова, Н.А. Суздальцева // Клиническая иммунология и аллергология – междисциплинарные проблемы: сб. трудов. – Казань, 2014. – С. 254-255.

8. Суздальцева, Т.В. Аспирин-индуцированный полипоз носа: иммунологические аспекты / Т.В. Суздальцева, Н.Н. Вечканова, Н.А. Суздальцева // Современные проблемы иммунологии, аллергологии и иммунофармакологии: тр. XIII Междунар. Конгресса. – М., 2015. – С. 130-131.

9. Суздальцева, Н.А. Патогенетические варианты аспириновой астмы / Н.А. Суздальцева, Т.В. Суздальцева // Российский аллергологический журнал. – 2017. – Т. 14, № S1. – С. 144-146.

10. Суздальцева, Н.А. Аутоиммунная патология при аспириновой астме / Н.А. Суздальцева // Научно-практическая ревматология. – 2018. – Т. 56, № 3 (прил. 2). – С. 75-76.

11. Суздальцева, Н.А. Клинико-иммунологические фенотипы инфекции, вызванной вирусом Эпштейна-Барр / Н.А. Суздальцева // Человек и лекарство: сборник материалов XXVI Российского национального конгресса. – М.: Видокс, 2019. – С. 137.

12. Суздальцева, Н.А. Инфекция, вызванная Epstein Barr Virus: клинико-иммунологические фенотипы / Н.А. Суздальцева // Сборник трудов XII Ежегодного Всероссийского интернет-конгресса по инфекционным болезням с международным участием / под ред. В.И. Покровского. – М., 2020. – С. 222-223.

13. Суздальцева, Н.А. Особенности вирус специфического гуморального ответа при хронической инфекции, вызванной Epstein Barr Virus, на фоне непереносимости нестероидных противовоспалительных средств / Н.А. Суздальцева, Д.А. Валишин // Сборник трудов XII Ежегодного Всероссийского интернет-конгресса по инфекционным болезням с международным участием / под ред. В.И. Покровского. – М., 2020. – С. 44.

14. Суздальцева, Н.А. Исследование антител к Helicobacter pylori у пациентов с респираторной неаллергической эозинофильной патологией на фоне хронической Эпштейн-Барр вирусной инфекции / Н.А. Суздальцева, Д.А. Валишин // Сборник трудов XIII Ежегодного Всероссийского конгресса по инфекционным болезням / под ред. В.И. Покровского. – М., 2021.- С. 154-155.

Список приведенных в автореферате диссертации сокращений

ВЭБ –	вирус Эпштейна-Барр
ИБ –	иммуноблот
ИВЭБ -	инфекция, вызванная вирусом Эпштейна-Барр
НИРЗ -	НПВП – индуцированные респираторные заболевания
НПВП -	нестероидные противовоспалительные препараты
CD –	кластер дифференцировки
CagA –	токсический белок А
EA-D -	Early diffuse antigen (ранний диффузный антиген)
EBI3 -	Epstein-Barr virus induced gene 3 (Эпштейн-Барр вирусом индуцированный ген 3)
EBNA-1 -	Epstein-Barr virus nuclear antigen 1 (Эпштейн-Барр вирусный ядерный антиген 1)
LMP -	Latent membrane protein (латентный мембранный протеин)
NK -	натуральный киллер
PE2 -	PE2 clone nuclear antigen 2 (PE2 клон ядерного антигена 2)
Pg -	простагландин
VCA -	Virus capsid antigen (вирусный капсидный антиген)

Суздальцева Наталья Алексеевна

Хроническая Эпштейна-Барр вирусная инфекция:
патогенетические особенности при респираторной патологии,
ассоциированной с непереносимостью
нестероидных противовоспалительных препаратов

Автореферат диссертации
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Сдано в набор 26.12.2022. Подписано в печать 27.12.2022.
Формат 60x84 1/16 Бумага офсетная. Гарнитура «Times New
Roman». Печать цифровая. Усл.печ. л. 1,4. Уч.-изд. л. 1,1.
Тираж 100 экз. Заказ № 114. Цена договорная.

Отпечатано в ООО «Арт-принт»
в полном соответствии с предоставленными оригинал-макетами.
Индекс 443066, адрес: г.Самара, ул.Дыбенко д.120
Сайт www.art-press63.ru, электронная почта art-press@inbox.ru